云 南 植 物 研 究 2003，25（6）：693～699
Acta Botanica Yunnanica

高硼处理增强巨尾桉苗木对零上低温的适应*

吕成群，黄宝灵
（广西大学林学院，广西 南宁 530001）

摘要：以木本植物巨尾桉为材料，研究在0℃以上低温，高硼处理对巨尾桉苗木生长以及苗木叶切片浸出液的相对电导率；超氧阴离子（$O_2^{-\cdot}$）产生速率；丙二醛（MDA）含量；超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化物酶（POD）、过氧化氢酶（CAT）活性；苗木茎尖、根尖和叶片IAA含量的影响。实验方案是在经过有多种硼浓度和温度的预备试验的基础上选出有代表性的两种硼浓度和6种温度进行进一步的研究。培养液均调至pH 6.8，每天30 $\mu molm^{-2}s^{-1}$光照12 h。结果表明：在0～8℃，高硼处理（8.00 mg/L）的苗木地下部干重是对照处理（2.86 mg/L）的7.14～2.81倍，地上部干重是对照处理的4.80～2.14倍，总生物量是对照处理的5.21～2.56倍；对照处理的相对电导率是高硼处理的1.80～2.68倍，$O_2^{-\cdot}$产生速率是高硼处理的2.01～2.84倍，MDA含量是高硼处理的1.64～1.95倍；高硼处理的SOD活性是对照处理的2.21～2.30倍，POD活性是对照处理的1.47～1.58倍，CAT活性是对照处理的2.08～2.04倍；对照处理茎尖的IAA含量是高硼处理的1.67～1.63倍，根尖IAA含量是高硼处理的1.42～1.46倍，高硼处理叶片的IAA含量是对照处理的2.25～2.00倍。

关键词：巨尾桉；硼；低温
中图分类号：Q 945 **文献标识码**：A **文章编号**：0253－2700(2003)06－0693－07

The High Boron Treament Enhaces Adaptation of *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla* Seedlings on Low Temperatures above Zero

LÜ Cheng-Qun，HUANG Bao-Ling
（*Forestry College*，*Guangxi University*，Nanning 530001，China）

Abstract：*Eucalyptus grandis* × *E. urophylla* seedlings were used as materials，and the effects with high boron treament on low temperatures above zero on seedlings growth and the relative electric conductivity of the solution soaked out of leaf segments and $O_2^{-\cdot}$ productive rate，malondialdehyde（MDA）contents，activities of superoxide dismutase（SOD），peroxidase（POD），catalase（CAT）of leaves and IAA contents of stems point，roots point and leaves were studied in this paper. The test scheme based on a series test in advance which included different temperatures and boron concentrations and 2 boron concentrations and 6 temperatures as terms of the test scheme were decided from them. The seedlings were cultured in pH 6.8 culture solution and put in condition of 30 $\mu molm^{-2}s^{-1}$ 12 h a day. The results showed that，in 0～8℃，

* 收稿日期：2003－05－07，2003－09－03 接受发表
作者简介：吕成群（1957－）男，副教授，博士，主要从事植物生理生化和分子生物学研究。

roots dry weights of seedlings treated with high boron were 7.14 – 2.81 times as high as that of the control ones, stems dry weights of seedlings treated with high boron were 4.80 – 2.14 times and the total biomass of seedlings treated with high boron were 5.21 – 2.56 times. The relative electric conductivity of the solution soaked out of leaf segments treated with control was 1.80 – 2.68 times, $O_2^{-\cdot}$ productive rate of leaves treated with control was 2.01 – 2.84 times and MDA contents of leaves treated with control was 1.64 – 1.95 times as high as that of the high boron ones. The SOD activities of leaves treated with high boron were 2.21 – 2.30 times, POD activities of leaves treated with high boron were 1.47 – 1.58 times and CAT activities of leaves treated with high boron 2.08 – 2.04 times as high as that of the control ones. The IAA contents of roots point and that of stems points treated with control was 1.67 – 1.63 times and 1.42 – 1.46 times respectively as high as that of the high boron ones. But the IAA contents of leaves treated with high boron were 2.25 – 2.00 times as high as that of the control ones.

Key words: *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla*; Boron; Low temperature

硼是植物必需的微量元素之一。有文献报道，缺硼会导致细胞膜 K^+ 离子透性增强（王震宇等，1998），体内活性氧积累（王春利，2001），H_2O_2 和膜脂过氧化产物丙二醛含量增加（刘鹏和杨玉爱，1999，2000），从而导致膜的伤害。生长素运输需要糖，而糖的运输又必须有硼。硼在 IAA 运输中发挥作用（王春利，2001）。含硼低的组织似乎比正常供硼组织对低温更敏感（Parr & Loughman，1983；Shorrocks，1990），硼具有提高植物抗寒性的能力（王震宇等，1998）。这些研究均是以农作物为材料。桉树生长快，主伐期短，5～7 年即可采伐，经济效益好，是联合国粮农组织推荐的世界三大速生树种之一，也是华南地区三大主要造林树种之一（吕成群和黄宝灵，2001）。我国种植的桉树大多从澳大利亚引种，属热带亚热带喜温树种，它们抗寒能力差，在低温下，树木非常容易受到伤害，严重影响了它在更大范围的地区栽培。本文以巨尾桉为材料，研究在低温下，硼对巨尾桉幼苗生长的影响，以探讨高硼处理增强巨尾桉苗木对零上低温的适应作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

选取根系发达、生长良好并基本一致的巨尾桉（*Eucalyptus grandis* × *E. urophylla*）组培瓶苗分成两组在 Hoagland 培养液中培养，其中一组为正常硼浓度 2.86 mg/L，为对照处理，另一组硼浓度 8.00 mg/L，为高硼处理。分别在 0℃、4℃、8℃、12℃、16℃、20℃的培养箱（空气 CO_2 浓度 0.035%）内培养，每处理 20 株。30 d 后测定苗木地下部和地上部干重，根尖、茎尖和叶片 IAA 含量，叶片 SOD、POD、CAT 活性，叶片 $O_2^{-\cdot}$ 产生速率、丙二醛（MDA）含量和叶切片浸出液相对电导率。

培养液均调至 pH 6.8，每天 30 μmolm^{-2}s^{-1}光照 12 h。实验方案是在经过有多种硼浓度和温度的预备试验的基础上选出有代表性的 2 种硼浓度和 6 种温度进行进一步的研究。

1.2 超氧物歧化酶（SOD）活性测定

参照 Donahue 等（1997），Schickler 和 Caspi（1999）的方法。3 ml 反应液中含甲硫氨酸 13 mmol/L，氯化硝基四氮唑蓝（NBT）75 μmol/L，核黄素 16.7 μmol/L，EDTA 0.1 mol/L，磷酸缓冲液 50 mmol/L（pH 7.8）。以抑制 NBT 光氧化还原 50% 酶量为 1 个酶活单位，用 U·mg^{-1} protein 表示酶活性。

1.3 过氧化物酶（POD）活性测定

参照 Amako 等（1994）的方法。3 ml 反应液中含磷酸缓冲液 0.2 mol/L（pH 6.0），1.355 μl H_2O_2，愈创

木酚 0.855 μl。以△A470·mg^{-1} protein·min^{-1}表示酶活性。

1.4　过氧化氢酶（CAT）活性测定

用曾韶西等（1991）的方法，以 1 min 酶解 1 μmol H_2O_2 为 1 个酶活力单位，用 U·mg^{-1} protein 表示酶活性。

1.5　IAA 的提取和测定　按照华东师范大学生物系植物生理教研组（1980）的方法。

1.6　超氧阴离子（$O_2^{-\cdot}$）产生速率的测定

按照王爱国和罗广华（1990）的方法测定。

1.7　叶切片浸出液相对电导率的测定

叶子用蒸馏水冲洗干净，然后切成块（1 cm × 1 cm），分成甲、乙两组，分别浸于 20 ml 重蒸馏水中，其中乙组样品置沸水浴中 15 min。经抽真空减压，2 h 后用 DDS－11A 型电导仪测定浸泡液中相对电导率。

1.8　丙二醛（MDA）含量测定

参照 Hendry 等（1993）的方法提取和测定 MDA 的含量。0.5 ml 提取液，3 ml 0.5%硫代巴比妥酸，煮沸 15 min，迅速冷却，1 800 × *g* 离心 10 min 后，测定 534 nm 和 600 nm 的光密度值。用标准 MDA 溶液作标准曲线，计算样品中 MDA 的含量。

实验重复 3 次，文中数据均为 3 次实验结果的平均值。

2　结果与分析

2.1　巨尾桉苗木生物量的变化

从图 1 可以看出，不同的硼浓度处理对在不同温度下巨尾桉苗木生长有明显不同的效应，苗木的地下部干重、地上部干重和总生物量在不同硼浓度处理间的差异均达到极显著水平［地下部干重 $F = 10.75 > F_{0.01}(1，18) = 8.29$，地上部干重 $F = 12.15 > F_{0.01}(1，18) = 8.29$，总生物量 $F = 11.13 > F_{0.01}(1，18) = 8.29$］。在 ≥12℃时，对照处理和高硼处理的苗木地下部干重、地上部干重和总生物量都相差不大，而在 <12℃时，两种硼浓度处理间的差别明显增大，如在 8℃，高硼处理的地下部干重是对照的 2.81 倍，4℃时是 3.09 倍，0℃时是 7.14 倍（图 1A），在 8℃，高硼处理的地上部干重是对照的 2.14 倍，4℃时是 3.87 倍，0℃时是 4.80 倍（图 1B），在 8℃，高硼处理的总生物量是对照的 2.56 倍，4℃时是 3.66 倍，0℃时是 5.21 倍（图 1C）。图 1A、1B 和 1C 的结果还分别表明，对照处理的苗木地下部干重、地上部干重和总生物量在 <12℃时都急剧下降，而高硼处理的地下部干重、地上部干重和总生物量在 20～0℃仅小幅下降。

2.2　苗木叶片的浸出液相对电导率、$O_2^{-\cdot}$ 产生速率和 MDA 含量的的变化

从图 2A 可以看出，两种硼浓度处理对在不同温度下的巨尾桉叶片的浸出液相对电导率有明显的差异，经方差分析表明，差异达极显著水平［$F = 13.45 > F_{0.01}(1，18) = 8.29$］。在 12～20 ℃时，两种浓度处理的叶片相对电导率相差不大，在 <12℃，对照叶片的浸出液相对电导率急剧上升，而高硼处理在 <4℃后，浸出液相对电导率才有所上升。在 8℃时，对照处理的浸出液相对电导率是高硼处理的 2.60 倍，4℃时是 2.68 倍，0℃时是 1.80 倍。

从图 2B 可以看出，两种硼浓度处理的 $O_2^{-\cdot}$ 产生速率在不同温度下的变化有明显的不同，经方差分析表明，两种处理间的差异达极显著水平［$F = 15.13 > F_{0.01}(1，18) = 8.29$］。在 ≥12℃时，两种处理的叶片 $O_2^{-\cdot}$ 产生速率差异不大，在 <12℃，对照处理的 $O_2^{-\cdot}$ 产生速率迅速加快，而高硼处理在 <4℃才略有上升，其中 8℃时，对照处理的 $O_2^{-\cdot}$ 产生速率是

高硼处理的2.84倍，4℃时是2.78倍，0℃时是2.01倍。

对图2C的结果进行方差分析表明，两种硼浓度处理间的MDA含量差异达极显著水平[$F = 13.14 > F_{0.01}(1, 18) = 8.29$]。在≥12℃，两种硼浓度处理的MDA含量差异不明显，在<12℃，对照处理的MDA含量迅速升高，而高硼处理的在<4℃以后上升也不明显。其中在8℃对照处理的MDA含量是高硼处理的1.79倍，在4℃是1.95倍，在0℃是1.64倍。

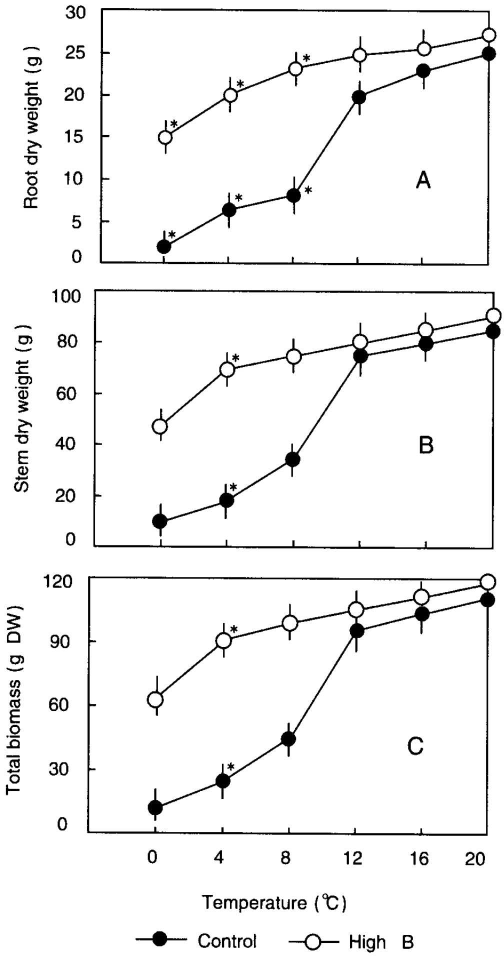

图1　苗木的地下部干重（A）、地上部干重（B）和总生物量（C）

Fig. 1　Root dry weight (A), stem dry weight (B) and total biomass (C) of *E. grandis* × *E. urophylla* seedlings

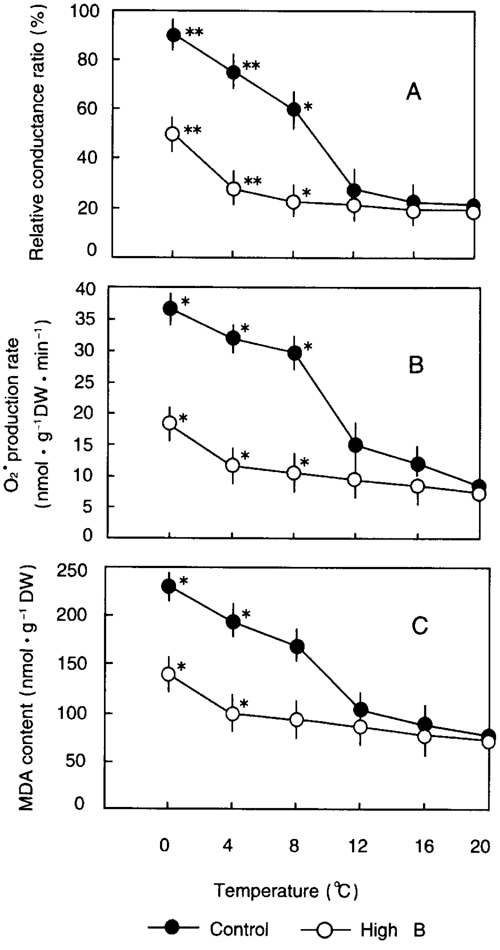

图2　苗木叶片相对电导率（A）、$O_2^{-}\cdot$产生速率（B）和MDA含量（C）

Fig. 2　Relative conductance ratio (A), $O_2^{-}\cdot$ production rate (B) and MDA content (C) in leaves of *E. grandis* × *E. urophylla* seedlings

2.3　苗木叶片SOD、POD和CAT活性的变化

从图3A结果可以看出，高硼处理的叶片SOD活性高于对照处理。在≥12℃，两种处理的SOD活性相差不大，在<12℃，对照处理的SOD活性急剧下降，在8℃，高硼处理的

SOD 活性是对照处理的 2.22 倍，4℃时是 2.30 倍，0℃时是 2.21 倍。以上结果经方差分析表明，两种处理间的差异达极显著水平［$F = 13.11 > F_{0.01}(1, 18) = 8.29$］。

图 3B 的结果表明，高硼处理的 POD 活性高于对照处理。其中，在 8℃，高硼处理的 POD 活性是对照处理的 1.58 倍，4℃时是 1.49 倍，0℃时是 1.47 倍。经方差分析，两种处理间的差异程度达极显著水平［$F = 9.25 > F_{0.01}(1, 18) = 8.29$］。

从图 3C 结果可以看出，高硼处理的 CAT 活性高于对照处理，在≥12℃，两种处理间的 CAT 活性差异不明显。在 < 12℃，对照处理的 CAT 活性开始急剧下降，而高硼处理在 < 4℃后才出现较为明显下降。在 8℃，高硼处理的 CAT 活性是对照的 2.07 倍，4℃时是 2.04 倍，0℃时是 2.08 倍。经数理统计方差分析表明，两处理的差异程度达极显著水平［$F = 15.75 > F_{0.01}(1, 18) = 8.29$］。

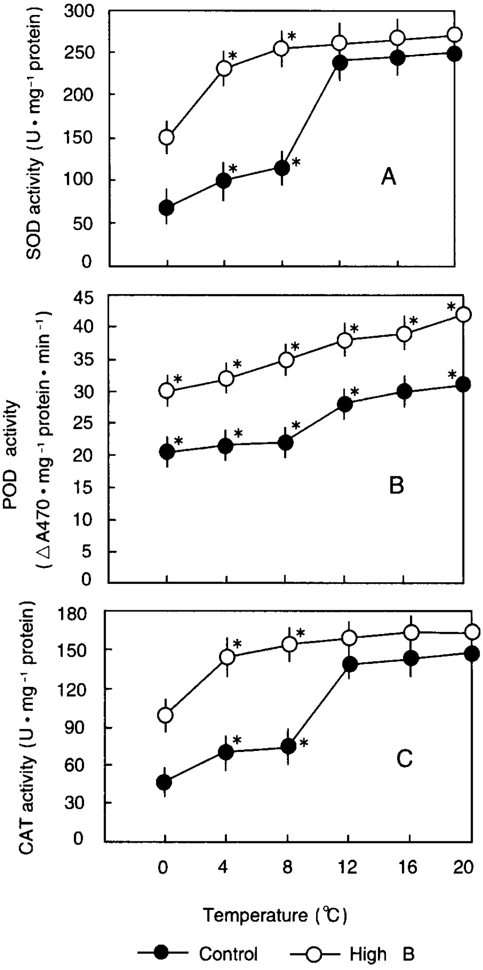

图 3　叶片的 SOD（A）、POD（B）和 CAT（C）活性

Fig. 3　The activities of SOD（A），POD（B）and CAT（C）in leaves of *E. grandis* × *E. urophylla* seedlings

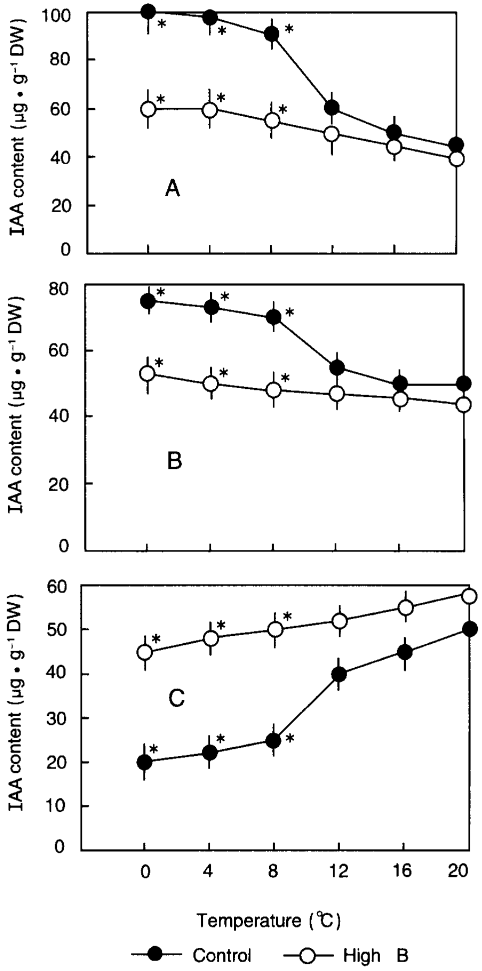

图 4　苗木茎尖（A）、根尖（B）和叶片（C）IAA 含量

Fig. 4　Contents of IAA in stem point（A），root point（B）and leaves（C）of *E. grandis* × *E. urophylla* seedlings

2.4 苗木茎尖、根尖和叶片 IAA 含量的变化

从图 4A 和 4B 结果可以看出，对照处理的茎尖和根尖 IAA 含量高于高硼处理。在茎尖，8℃时对照处理的 IAA 含量是高硼处理的 1.65 倍，4℃时是 1.63 倍，0℃时是 1.67 倍，经方差分析，两处理间的差异达到极显著水平 [$F = 14.10 > F_{0.01}(1，18) = 8.29$]。在根尖，8℃时对照处理的 IAA 含量是高硼处理的 1.46 倍，4℃时是 1.46 倍，0℃时是 1.42 倍，两处理间的差异达到极显著水平 [$F = 13.10 > F_{0.01}(1，18) = 8.29$]。而在叶片，高硼处理的 IAA 含量明显高于对照处理，在 8℃时是对照处理的 2.00 倍，4℃时是 2.18 倍，0℃时是 2.25 倍，经方差分析，两处理间的差异达到极显著水平 [$F = 14.90 > F_{0.01}(1，18) = 8.29$]（图 4C）。

3 讨论

巨尾桉是热带亚热带喜温树种，含硼正常的培养液（2.86 mg/L，对照植株）培养的植株在≤8℃的低温胁迫下苗木即表现出生长不正常，根和茎的生长都受到抑制，总生物量明显下降，而高硼处理（8.00 mg/L）可保护苗木免遭低温为害，在 0℃时其地下部干重、地上部干重、生物总量分别为对照处理的 7.14 倍、4.80 倍、5.21 倍（图 1A、1B、1C），在植株体内也引起了一系列的生理生化变化。

植物在正常情况下，体内通过氧代谢途径会自动产生活性氧，但它们很快能被植物体内的 SOD、POD 和 CAT 等保护酶所清除，在活性氧的产生和清除之间形成一个相对的动态平衡（王爱国，1998）。$O_2^{-\cdot}$ 伤害植物的机理之一在于参与启动膜脂过氧化或膜脂脱脂作用（吕庆和郑荣梁，1996），MDA 是膜脂过氧化作用的最终产物，是膜系统受害的重要指标之一（陈少裕，1991）。低温下，活性氧的产生与清除之间的平衡会被破坏，植物的清除能力下降，活性氧量增加，正常供硼也不能维持低温下巨尾桉植株活性氧产生与清除之间的平衡。在正常供硼的情况下，高于 8℃时，$O_2^{-\cdot}$ 的产生速率虽有增加（图 2B），但由于此时的 SOD、POD 和 CAT 等保护酶的活性也相应增高（图 3A、3B、3C），能有效地清除所产生的 $O_2^{-\cdot}$，故膜很少遭到破坏，MDA 含量和相对电导率较低（图 2A、2C）；但低于 8℃时，$O_2^{-\cdot}$ 的产生速率加剧（图 2B），而 SOD、POD 和 CAT 等保护酶活性则急剧下降（图 3A、3B、3C），此时的 MDA 和相对电导率也在明显上升（图 2A、2C）。这说明 $O_2^{-\cdot}$ 是破坏膜的主要因素，保护酶一旦超出了它们清除 $O_2^{-\cdot}$ 的能力，造成 $O_2^{-\cdot}$ 的累积，加速对膜的破坏。而高硼处理增强巨尾桉苗木对零上低温的适应在于对 $O_2^{-\cdot}$ 的产生速率的抑制。高硼处理植株的 $O_2^{-\cdot}$ 的产生速率很慢，故 MDA 和相对电导率也较小，对膜的破坏性不大（图 2A、2B、2C）。

植株的生长需要生长素，生长素需要从茎尖和根尖的合成部位运输到各生长部位。在≤8℃时，两种硼浓度处理植株的 IAA 浓度相差很大。在茎尖和根尖均为正常供硼处理植株的高于高硼处理植株，而在叶片，则是高硼处理高于正常供硼（图 4A、4B、4C）；而 > 8℃时，两种硼处理的 IAA 含量差异不大。这表明即使正常供硼的植株，在≤8℃时苗木生长受到影响，是由于 IAA 运输受阻，从而导致茎尖和根尖过高的 IAA、叶片没有足够的 IAA 而抑制了植物的生长。而高硼处理植株各部位的 IAA 含量在≤8℃时仍变化不大，维

持植株生长所需的 IAA 正常浓度。

由此可见，高硼处理能增强巨尾桉苗木对零上低温适应的作用在于增强体内保护酶活性，有效抑制 $O_2^{-\cdot}$ 的产生，使细胞膜免受破坏，同时能保持 IAA 在体内的正常运输，从而维持苗木在零上低温下正常生长。

〔参　考　文　献〕

王爱国，1998．植物的氧代谢［A］．见：余叔文，汤章城主编．植物生理与分子生物学（第 2 版）［M］．北京：科学出版社，366—389

华东师范大学生物系植物生理教研组主编，1980．植物生理实验指导［M］．北京：人民教育出版社，184—186

Amako K，Chen GX，Asade K，1994．Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants［J］．*Plant Cell physiol*，**35**：497—504

Chen SY（陈少裕），1991．Injury of membrane lipid peroxidation to plant cell［J］．*Plant Physiol Commun*（植物生理学通讯），**27**（2）：84—90

Donahue JL，Okpodu MC，Cramer CL，1997．Responses of antioxidants to paraquat in pea leaves［J］．*Plant Physiol*，**113**：249—257

Hendry GAF，Thorpe PC，Merzlyak MN，1993．Stress indicators：lipid peroxidation［A］．In：Hendry GAF，Grime JP（des）．Methods in Comparative Plant Ecology［M］．London：Chapman & Hall，154—156

Liu P（刘鹏），Yang YA（杨玉爱），1999．The research development of physiological response of rape in the stress of low boron［J］．*China J Oil Crop Sci*（中国油料作学报），**21**：74—78

Liu P（刘鹏），Yang YA（杨玉爱），2000．Effects of molybdenum and boron on membrane lipid peroxidation and endogenous protective systems of soybean leaves［J］．*Acta Bot Sin*（植物学报），**42**：461—466

Lü C Q（吕成群），Huang BL（黄宝灵），2001．Studies of the growth promoting and physiological effects of rare-earth on *E．grandis* × *E．urophylla* seedlings［J］．*J Central South Forest Univ*（中南林学院学报），**21**：61—64

Lü Q（吕庆），Zheng RL（郑荣梁），1996．Membrane lipid peroxidation and deesterification of wheat induced by drought and active oxygen［J］．*Sin Chin*（Ser C）（中国科学．C 卷），**26**：26—30

Parr AJ，Loughman BC，1983．Boron and membrane functions in plants［A］．In：Robb DA，Pierpoint WS（eds）．Metals and Micronutrients：Uptake and Utilization by plants［M］．London：Academic press，87—107

Schickler H，Caspi H，1999．Response of antioxidative enzymes to nickel and cadmium stress in hyperaccumulator plants of the genus *Alyssum*［J］．*Physiol Plant*，**105**：39—44

Shorrocks VM，1990．Behavior，Function and Significance of Boron in Agriculture［M］．Oxford：Report of an Int．Workshop，23—25 Jnly 1990．Borax Consolidated

Wang AG（王爱国），Luo GH（罗广华），1990．Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and supexoxide anion radicals in plants［J］．*Plant Physiol Commun*（植物生理学通讯），**26**（6）：55—57

Wang CL（王春利），2001．Physiological injury caused by deficient boron in plants［J］．*Plant Physiol Commun*（植物生理学通讯），**37**（4）：352—355

Wang ZY（王震宇），Zhang FS（张福锁），Wang H（王贺），*et al*，1998．Effects of boron-deficiency and low temperature on some physiological responses of cucumber seedlings［J］．*Acta Phytophysiol Sin*（植物生理学报），**24**：59—64

Zeng SX（曾韶西），Wang YR（王以柔），Liu HX（刘鸿先），1991．Sone enzymatic reactions related to chlorophyll degradation in cucumber cotyledons under chilling in the light［J］．*Acta Phytophysiol Sin*（植物生理学报），**17**：177—182